

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. med. F. Linneweh)

NITROBLAU-TETRAZOLIUM-REDUKTIONSKAPAZITÄT
VON NEUTROPHILEN GRANULOCYTEN
IM NABELSCHNURBLUT

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von —

STEFAN MÜLLER-LISSNER

aus Frankfurt/Main

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershauser, Marburg (Lahn)

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg/Lahn
(Direktor: Prof. Dr. med. F. Linneweh)

NITROBLAU-TETRAZOLIUM-REDUKTIONSKAPAZITÄT
VON NEUTROPHILEN GRANULOCYTEN
IM NABELSCHNURBLUT

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität zu Marburg
vorgelegt von

STEFAN MÜLLER-LISSNER

aus Frankfurt/Main

Marburg 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 23.1.1976

Dekan: Prof. Dr. H. Oepen

Referent: Prof. Dr. C. Eschenbach

Correferent: Prof. Dr. K.P. Sodomann

Inhalt

1. Einleitung	S. 3
2. Methode	S. 5
2.1. Geräte und Material	S. 5
2.2. Einteilung der Untersuchungsgruppen	S. 5
2.3. Durchführung der Untersuchung	S. 6
2.3.1. Herstellung der NBT-Lösung	S. 6
2.3.2. Herstellung der NBT-Staphylokokkensuspension	S. 6
2.3.3. Berechnung der Zusatzmengen	S. 7
2.3.4. Blutentnahme	S. 7
2.3.5. Ansätze	S. 8
2.3.6. Zählung der Neutrophilen Granulocyten	S. 8
2.4. Auswertung	S. 8
3. Ergebnisse	S.11
4. Diskussion	S.16
5. Zusammenfassung	S.23
6. Literaturverzeichnis	S.25
7. Lebenslauf	S.34
8. Verzeichnis der akademischen Lehrer	S.35

1. Einleitung

Das Prinzip des Nitroblau-Tetrazolium-Testes beruht darauf, daß gelbes Nitroblau-Tetrazolium (NBT) von phagocytierenden Leucocyten durch Ingestion und/oder Diffusion aufgenommen und zu unlöslichem, lichtblauem Formazan reduziert wird. Wird in einer Zelle Formazan mikroskopisch nachgewiesen, ist gezeigt, daß diese Zelle NBT sowohl aufgenommen als auch zu Formazan reduziert hat.

Die Menge des von phagocytierenden Leucocyten des peripheren Blutes reduzierten NBT ist weitgehend konstant bei gesunden Personen jenseits der Neugeborenenperiode, gesteigert ist sie hingegen bei Patienten mit bakteriellen Infektionen und Neugeborenen.

Trotz vielfacher Modifikationen der Methode ist eine Trennung der Funktionen NBT-Aufnahme und NBT-Reduktion nicht möglich. Die Negativität einer Zelle im NBT-Test läßt keine Schlüsse zu, ob diese Zelle NBT aufgenommen, jedoch nicht zu Formazan reduziert hat, ob bei normaler NBT-Reduktionskapazität NBT durch die Zelle nicht aufgenommen wurde oder ob beide Funktionen gestört sind. Entsprechend erlaubt eine über die Norm hinausgehende Steigerung der Positivität keine Aussage über deren Ursache.

Eine Differenzierung von NBT-Aufnahme und NBT-Reduktion ist hingegen möglich bei Verwendung einer von ESCHENBACH et al. (1975) beschriebenen Modifikation des NBT-Testes: NBT wird an hitzegetötete Bakterien gekoppelt und Leucocyten zur Ingestion angeboten. Erfolgt die Reduktion zu Formazan, erscheinen die ingestierten Bakterien lichtblau gefärbt, bleibt die Reduktion des NBT aus, sind die NBT-tragenden Bakterien lichtmikroskopisch ebenfalls sicher zu identifizieren, sie sind grau-braun. Damit

wird ermöglicht, das Angebot von NBT quantitativ auf die phagocytierenden Leucocyten zu beziehen, somit auch das Angebot zu variieren und Korrelationen von NBT-Angebot und NBT-Reduktion einerseits und NBT-Ingestion und NET-Reduktion andererseits vorzunehmen. Aus methodischen Gründen werden bei der Untersuchung nur Neutrophile Granulocyten berücksichtigt.

Mit Hilfe dieser Methode soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob die erhöhten Werte im NBT-Test an Neutrophilen Granulocyten (NG) Neugeborener auf gesteigerter Ingestionskapazität oder größerer Reduktionskapazität der NG beruhen.

2. Methode

2.1. Geräte und Material

- Polystyrolröhrchen (SARSTEDT, Nümbrecht)
Länge 84 mm, Innendurchmesser 14 mm
- Heparin (HOFFMANN-LAROCHE, Basel), ca. 160 IE/mg
- p-Nitroblau-Tetrazolium (NBT) (SERVA, Heidelberg)
 $C_{40}H_{30}N_{10}O_6Cl_2$, MG = 817,7 ; Bst, Nr. 30550 A
- Staphylococcus aureus¹⁾, Stamm SG 511, kultiviert
in Glucose-Bouillon während 24 Std. bei 37°C;
anschließend Abtöten der Erreger durch Erwärmen
der Kultur auf 65°C für 30 min; Zahl der Bakterien:
 10^{11} - 10^{12} /ml Suspension; bis zur Verwendung wur-
de die Suspension in Polystyrolröhrchen von 8 ml
Volumen in gefrorenem Zustand bei -14°C gelagert.

2.2. Einteilung der Untersuchungsgruppen

Blutproben von zwei Gruppen wurden untersucht:

A. Kontrollgruppe: Gesunde Personen im Alter von vier
bis vierzig Jahren, n = 17.

Als Kriterien für die Auswahl der Personen der Kon-
trollgruppe wurden anamnestische Angaben, Befunde
klinischer Untersuchungen und Ergebnisse von Labo-
ratoriumsuntersuchungen (BSG, Leucocytenzahl, Diffe-
rentialblutbild) herangezogen. Im Laufe eines Monats
vor der Untersuchung Geimpfte wurden ausgeschlossen.

B. Untersuchungsgruppe: Neugeborene, n = 25.

In die Untersuchungsgruppe wurden zum Termin gebo-
rene, reife Neugeborene aufgenommen, deren Mütter zum

1) Ich danke Herrn Prof. Dr. W. Schiff, Hygiene-Insti-
tut der Universität Marburg, für die Herstellung und
Überlassung der Staphylokokken - Suspensionen.

Zeitpunkt der Geburt frei von Infektionen waren, deren Schwangerschafts- und Geburtsverlauf komplikationslos waren, deren Geburtsgewicht mindestens 2500 g (im Durchschnitt 3410 g) und deren Apgar-Index spätestens 10 min post partum 10 betrug. Nicht aufgenommen wurden Neugeborene, bei denen intrauterine Infektion oder Fruchtwasseraspiration bestanden, desgleichen Neugeborene, deren Mütter an endokrinen Störungen oder Gestosen litten.

2.3. Durchführung der Untersuchung

2.3.1. Herstellung der NBT-Lösung

20 mg NBT wurden unter Erwärmen auf 37°C in 3 ml phosphatgepufferter NaCl-Lösung gelöst, anschließend Filtration der Lösung (Filter Nr. 595 der Fa. SCHLEICHER und SCHÜLL, Dassel).

2.3.2. Herstellung der NBT-Staphylokokken-Suspension

Vor Versuchsbeginn wurde die gefrorene Staphylokokken-Suspension im Wasserbad von 30 - 35°C rasch getaut, dann zweimal durch Zentrifugieren und Resuspension in phosphatgepufferter NaCl-Lösung bei Raumtemperatur gewaschen; nach einer weiteren Zentrifugation wurden die Staphylokokken in NBT-Lösung suspendiert, wobei zu den sedimentierten Staphylokokken von 16 ml der ursprünglichen (gefrorenen) Suspension 1 ml NBT-Lösung gegeben wurde. Die Inbibierung der Erreger mit NBT erfolgte durch Inkubation während 60 min bei 37°C. Danach wurden die Staphylokokken nicht nochmals gewaschen. Die Zahl der NBT-Staphylokokken pro Volumeneinheit wurde durch Verdünnung eines Teiles der Suspension mit NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 20 mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer bestimmt. Die angewendeten NBT-Staphylokokken- (NBT-Staph-) Suspensionen enthielten $2 - 4 \times 10^9$ NBT-Staph/ml Suspension.

2.3.3. Berechnung der Zusatzmengen

Um ein unterschiedliches Angebot der NBT-Staphylokokken pro Neutrophilem Granulocyten (NBT-Staph/NG) im Ansatz berechnen zu können, wurde vor Untersuchungsbeginn im Blut der Kontrollpersonen die absolute Zahl der NG/ml bestimmt. Unter Zugrundelegung von 1 ml Vollblut für jeden Ansatz, der jeweils bestimmten Zahl von NG/ml Vollblut und der bestimmten Zahl der NBT-Staph/ml NBT-Staph-Suspension wurden für jeden Ansatz der Kontrollgruppe die zu verwendenden Volumina der NBT-Staph-Suspension errechnet, um folgende Relationen der NBT-Staph des Angebotes pro NG des zu untersuchenden Blutes zu erreichen: 6 , 12 , 25 , 50 und 100 : 1 .

Da gleiches Vorgehen in der Untersuchungsgruppe nicht möglich war, wurde hier eine Zahl von 5×10^3 NG/ml angenommen; da jene hiervon jedoch häufig stark abwich, wurden in dieser Gruppe zusätzlich die Relationen 3 und 200 NBT-Staph/NG berechnet.

2.3.4. Blutentnahme

Jeder Kontrollperson wurden ca. 7 ml Venenblut entnommen und in Polystyrolröhrchen mit 0,2 mg Heparin vermischt.

Ebenfalls ca. 7 ml Blut pro Versuch wurden aus dem maternen Stumpf der frisch durchschnittenen Nabelschnur entnommen.²⁾ Dazu wurde die Nabelschnur soweit gesenkt, daß das Blut frei in das Polystyrolröhrchen floß, in dem es mit 0,2 mg Heparin vermischt wurde. Die Zeit vom Durchschneiden der Nabelschnur bis zum Versuchsansatz im Labor betrug maximal 4 min.

2) Herrn Prof. Dr. R. Buchholz sei für die Ermöglichung dieser Untersuchung, den im Kreißsaal der Universitäts-Frauenklinik in Marburg Beschäftigten für ihre Hilfe bei der Gewinnung des Nabelschnurblutes gedankt.

2.3.5. Ansätze

Die für jeden Ansatz errechnete Menge der NBT-Staph-Suspension wurde in Polystyrolröhrchen pipettiert und durch Zusatz von gepufferter NaCl-Lösung bis zu einem Gesamtvolumen von 0,5 ml ergänzt. Jedem vorbereiteten Inkubationsröhrchen wurde 1 ml heparinisiertes Blut zugesetzt, während der 30 min dauernden Inkubation bei 37°C jedes Inkubationsröhrchen mit ca. 55 rpm um die Längsachse rotiert. Anschließend wurden von dem Blut jedes Ansatzes mehrere gleichmäßige, dünne Ausstrichpräparate angefertigt, luftgetrocknet und ungefärbt mit Eukitt eingedeckt.

2.3.6. Zählung der Neutrophilen Granulocyten

In dem für die Ansätze nicht verwendeten Blut wurden für die Kontrollgruppe nochmals und für die Untersuchungsgruppe erstmals die Zahl der NG/ml bestimmt. Dies geschah durch Zählung der Leucocyten mit Hilfe eines Zelloskops und Bestimmung des Anteils der NG an der Gesamtleucocytenzahl im Differentialblutbild. Diese Werte wurden zur endgültigen Berechnung der Relation NBT-Staph/NG herangezogen.

2.4. Auswertung

Die Auswertung der Präparate erfolgte mit einem Phasenkontrastmikroskop bei einer Vergrößerung von 1 : 800. Vom Ausstrichende beginnend wurden an beiden seitlichen Rändern der Präparate je 50 unbeschädigte, unausgewählte NG beurteilt. Sie sind durch die Zellgröße, die Kernform und die Granulaturstruktur von den ebenfalls phagocytierenden Monocyten und Eosinophilen Granulocyten wie von den nicht phagocytierenden Lymphocyten abzugrenzen. Ingestierte, jedoch nicht reduzierte NBT-Staphylokokken erscheinen als grau-braune, reduzierte

NBT-Staphylokokken als lichtblaue bis dunkelblaue Einschlüsse, deren Mehrzahl bei lichtmikroskopischer Betrachtung nicht von einer Membran umschlossen scheint, die teilweise jedoch auch innerhalb von Vakuolen gelegen sind (Abb. 1 ,S. 10).

In jedem einzelnen NG wurden bewertet: Die Gesamtzahl der ingestierten NBT-Staphylokokken und die Zahl der reduzierten NBT-Staphylokokken.

Für jeden A n s a t z - für jede gewählte Relation NBT-Staph/NG des Ansatzes - lassen sich folgende Werte aus den gewonnenen Ergebnissen berechnen:

1. Der Ingestionsindex, d.h. die Zahl der durch 100 NG ingestierten NBT-Staph (NBT-Staph/100 NG),
2. Der Reduktionsindex, d.h. die Zahl der durch 100 NG reduzierten NBT-Staph bezogen auf die Zahl der durch 100 NG ingestierten NBT-Staph (% der ingestierten NBT-Staph),
3. Der Anteil der ingestierenden NG, d.h. der prozentuale Anteil der an der Ingestion beteiligten NG (NG %).

Für jede untersuchte P e r s o n bzw. für jedes N e u g e b o r e n e lassen sich zusätzlich folgende Parameter errechnen:

4. Das erforderliche Angebot von NBT-Staph/NG, um einen definierten Ingestionsindex zu erreichen,
5. Der Reduktionsindex bei einem definierten Ingestionsindex.

Um innerhalb jeder Gruppe und für die beiden Gruppen untereinander vergleichbare Werte zu erhalten, wurden die Ergebnisse der errechneten Werte 1. - 3. für die Relationen des Angebotes von 10 , 20 , 40 und 60 NBT-Staph/NG numerisch interpoliert. Die Werte 4. und 5. wurden jeweils für die Ingestionsindizes 400 , 700 , 1000 und 1300 NBT-Staph/100 NG berechnet.

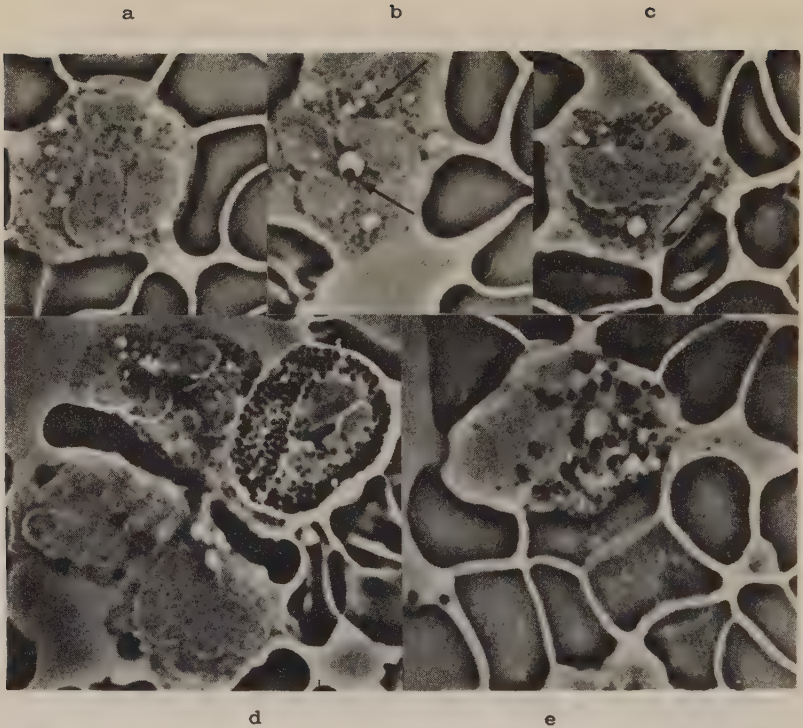


Abb.1. Leucocyten im NBT-Test. Ungefärbtes Präparat im Phasenkontrastmikroskop, Vergrößerung 1 : 800.

- (a) Neutrophiler Granulocyt mit Vakuolen, ohne Bakterien
- (b) NG mit zwei ingestierten Bakterien (→), von denen eines in einer größeren Vakuole gelegen ist.
- (c) Stabförmiger NG mit einem ingestierten Bakterium (→).
- (d) Links: NG mit fünf ingestierten Bakterien.
Mitte oben: NG ohne Bakterien.
Oben rechts: Eosinophiler Granulocyt; die Granula gleichen in Größe und Gestalt Bakterien.
Unten: Monocyt mit vier ingestierten Bakterien.
- (e) NG mit 35 ingestierten Bakterien.

Aus technischen Gründen war es nicht möglich, die Abbildung farbig zu gestalten, sodaß auf den Photographien nicht zwischen reduziert und nicht-reduziert unterschieden werden kann.

Die Berechnung der Signifikanzen der Differenzen aus den Ergebnissen der Kontrollgruppe und der Untersuchungsgruppe wurde mit Hilfe des t-Testes vorgenommen.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tab. 1 - 5 (S.12) und in Abb. 2 und 3 (S.14 u. 15) dargestellt und lassen folgende Aussagen zu:

1. In beiden Gruppen steigen mit zunehmendem Angebot von NBT-Staph/NG der Ingestionsindex, der Reduktionsindex sowie der Anteil der ingestierenden NG (Tab.1 - 3, Abb.2).
2. Bei gleichem Anstieg des Angebotes von NBT-Staph/NG als Phagocytat erfolgt der Anstieg der Ingestionsindices der NG unterschiedlich : In der Untersuchungsgruppe ist der Ingestionsindex in allen gewählten Relationen des Angebots gegenüber der Kontrollgruppe signifikant gesteigert (Tab.1, Abb.2.a.).
3. Bei gleichem Anstieg des Angebotes von NBT-Staph/NG erfolgt der Anstieg der Reduktionsindices in den beiden Gruppen unterschiedlich, und zwar ist der Reduktionsindex der Untersuchungsgruppe gegenüber dem der Kontrollgruppe in den gewählten Relationen signifikant gesteigert (Tab.2, Abb.2.b.).
4. Bei gleichem Anstieg des Angebotes von NBT-Staph/NG ist der Anteil der ingestierenden NG in der Untersuchungsgruppe signifikant höher als der in der Kontrollgruppe (Tab.3, Abb.2.c.).
5. Um definierte, gleiche Ingestionsindices in beiden Gruppen zu erreichen, sind unterschiedliche Angebote von NBT-Staph/NG als Phagocytat erforderlich:

Tab.1 (Ingestionsindices)

Angebot	$\bar{x}(K)$	s(K)	$\bar{x}(U)$	s(U)	P
10	63	36	326	92	<0,001
20	213	108	765	165	<0,001
40	705	351	1712	437	<0,001
60	1221	463	2683	669	<0,001

Tab.2 (Reduktionsindices)

Angebot	$\bar{x}(K)$	s(K)	$\bar{x}(U)$	s(U)	P
10	57,57	25,43	86,61	7,67	<0,001
20	75,45	15,72	94,15	2,15	<0,001
40	90,10	9,46	97,02	1,49	<0,05
60	95,23	5,25	98,17	0,77	<0,05

Tab.3 (Ingestierende Neutrophile Granulocyten)

Angebot	$\bar{x}(K)$	s(K)	$\bar{x}(U)$	s(U)	P
10	27,25	14,93	75,90	10,30	<0,001
20	55,17	15,20	94,70	3,70	<0,001
40	82,18	12,20	99,30	0,80	<0,001
60	94,28	5,28	99,90	0,01	<0,01

Tab.4 (Erforderliches Angebot)

Ing.-Index	$\bar{x}(K)$	s(K)	$\bar{x}(U)$	s(U)	P
400	31,78	8,14	12,30	2,47	<0,001
700	43,70	12,24	18,86	3,20	<0,001
1000	55,75	17,65	26,10	4,60	<0,001
1300	67,02	24,16	33,18	6,52	<0,001

Tab.5 (Reduktions-Indices bei def. Ing.-Indices)

Ing.-Index	$\bar{x}(K)$	s(K)	$\bar{x}(U)$	s(U)	P
400	86,21	10,42	89,67	3,62	>0,05
700	91,25	8,34	93,67	1,79	>0,05
1000	93,90	7,23	95,41	1,38	>0,05
1300	95,96	6,50	96,41	1,22	0,05

(Legenden zu Tab.1 - 5 s.S.13!)

Das notwendige Angebot ist in der Untersuchungsgruppe im gesamten untersuchten Bereich signifikant geringer als in der Kontrollgruppe, d.h. die NG des Nabelschnurblutes ingestieren intensiver als die NG des Blutes der Kontrollpersonen (Tab.4, Abb.3.a.).

6. Der Vergleich der Reduktionsindices bei definierten-gleichen Ingestionsindices läßt hingegen im gesamten untersuchten Bereich keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen erkennen (Tab.5, Abb.3.b.).

Den Ergebnissen ist zu entnehmen:

NG des Nabelschnurblutes ingestieren NBT-Staph intensiver als die der Kontrollpersonen. Bei Zugrundelegung gleicher Ingestionsindices der NG unterscheiden sich die Reduktionsindices der NG zwischen den Gruppen nicht: Die Fähigkeit der NG, NBT zu reduzieren, ist unabhängig vom Alter der untersuchten Person konstant. Die Unterschiede in der NBT-Reduktion bei gleichem Angebot von NBT-Staph/NG zwischen den Gruppen sind durch unterschiedliche Ingestion und nicht durch unterschiedliche Reduktion bedingt.

Legenden zu Tab.1 - 5 (S.12)

Tab.1 - 3 : Ingestionsindices (NBT-Staph/100 NG), Reduktionsindices (reduzierte NBT-Staph in %) und Anteil der ingestierenden NG (in %) in Abhängigkeit vom Angebot von NBT-Staph/NG im Ansatz.

Tab.4 und 5 : Erforderliches Angebot von NBT-Staph /NG im Ansatz bei definierten Ingestionsindices und bei diesen Ingestionsindices erreichte Reduktionsindices. - $\bar{x}(K), \bar{x}(U)$ = Mittelwerte der Kontroll- bzw. Untersuchungsgruppe; $s(K), s(U)$ = Standardabweichungen zu den Mittelwerten der Kontroll- bzw. Untersuchungsgruppe. P = Irrtumswahrscheinlichkeit (t - Test).

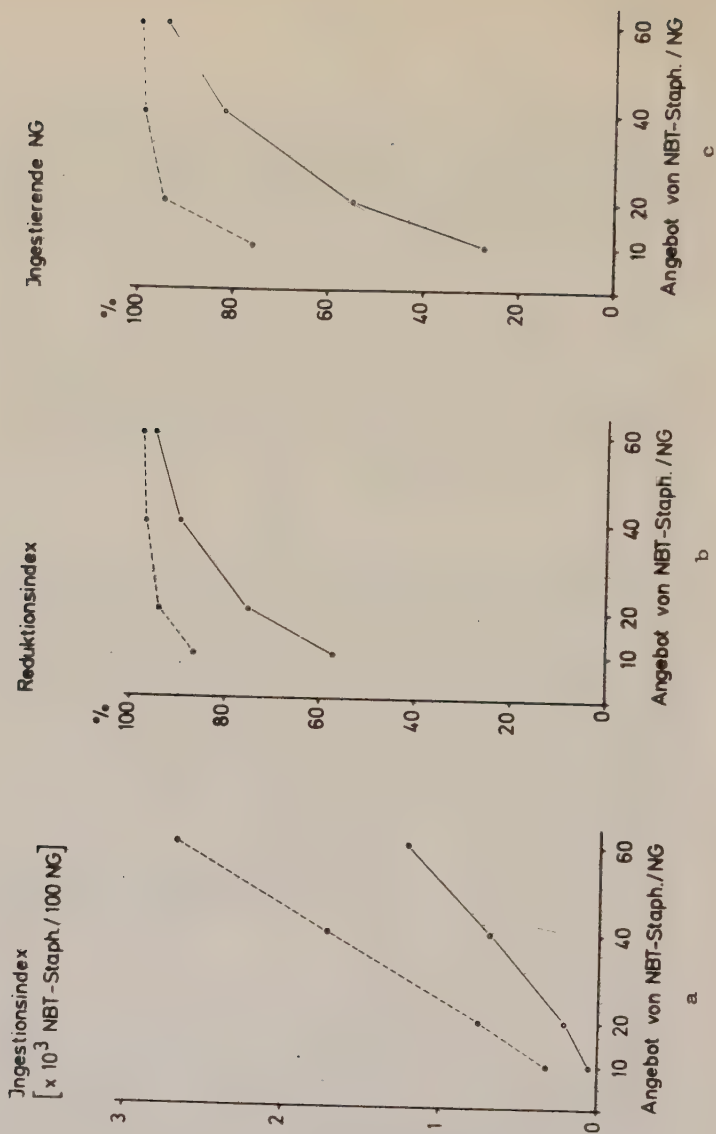


Abb.2. Mittelwerte der Ingestionsindices (a), Reduktionsindices (b) und der Anteile der ingestierenden Neutrophilen Granulocyten (c) in Abhängigkeit vom Angebot von NBT-Staph/NG im Ansatz. o—o = Kontrollgruppe; o-----o = Untersuchungsgruppe. Die Standardabweichungen sind Tab. 1 - 3 (S. 12) zu entnehmen.

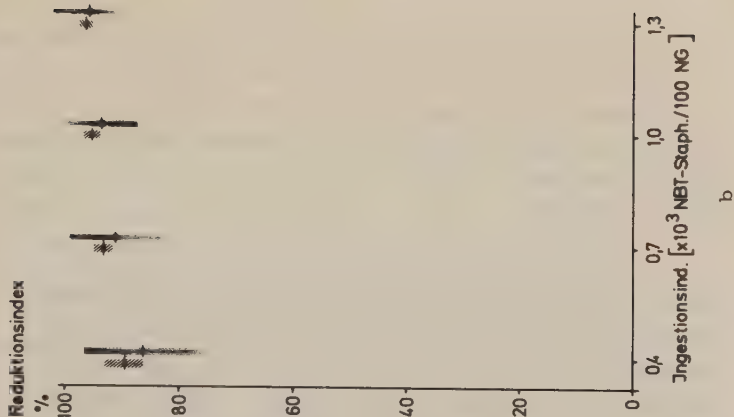
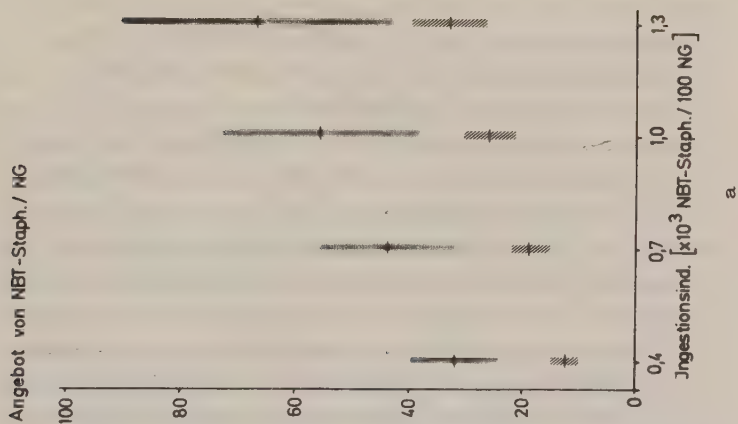


Abb.3. Mittelwerte und Standardabweichungen des erforderlichen Angebotes von NBT-Staph./NG im Ansatz bei definierten Ingestionsindices (a) und der bei diesen Ingestionsindices erreichten Reduktionsindices (b). — = Kontrollgruppe; ▨ = Untersuchungsgruppe.

4. Diskussion

Von Neutrophilen Granulocyten (NG) hämatologisch gesunder Personen ingestiertes Nitroblau-Tetrazolium (NBT) wird zu blauem Formazan reduziert. Es ist nicht bekannt, welches bzw. welche Enzyme an dieser Reaktion beteiligt sind. Man kennt hingegen in der Progressiven Septischen Granulomatose (PSG) eine Krankheit, bei der die Reduktionsfähigkeit der NG für NBT stark vermindert ist (BAEHNER et al., 1967, 1968, 1972; WINDHORST et al., 1967; PARK et al., 1967, 1968, 1970; AZIMI et al., 1968; CHANDRA et al., 1969; THOMPSON et al., 1969; NATHAN et al., 1969; JOHNSTON, 1969; BELLANTI et al., 1970; MATULA et al., 1970; GIFFORD et al., 1970; PREISIG et al., 1971; OCHS et al., 1973). Pathophysiologisch ist die PSG gekennzeichnet durch eine Unfähigkeit der NG, nicht H_2O_2 -bildende Bakterien zu digestieren, weil die NG nicht in der Lage sind, das für die Digestion notwendige H_2O_2 zu erzeugen (BAEHNER et al., 1967; KARNOVSKY, 1968; WINDHORST et al., 1968). Dieses Unvermögen kann offenbar durch verschiedene Enzymdefekte bedingt sein: BAEHNER et al. beschrieben 1968 für von ihnen untersuchte männliche Patienten einen Mangel an NADH-Oxidase (X-chromosomal-rezessive Form der PSG), HOLMES et al. 1970 für zwei weibliche Patienten einen Mangel an Glutathion-Peroxidase (autosomal-rezessive Form). In einem weniger schwer verlaufenden Fall fanden COOPER et al. 1970 einen Mangel an Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (in diesem Sinne auch

BAEHNER et al., 1972). Die Autoren beschreiben als Folge aller drei Enzymdefekte eine fehlende Bildung von H_2O_2 . Ebenfalls bei allen drei Defekten bleibt die NBT-Reduktion aus (BAEHNER et al., 1967, 1968, 1972; OCHS et al., 1973; COOPER et al., 1970).

Es ist demnach nicht gerechtfertigt, wie durch RENNER 1969 geschehen, die NADH-Oxidase als das für die NBT-Reduktion verantwortliche Enzym anzusehen - bei Glutathion-Peroxidase-Mangel mit fehlender NBT-Reduktion war nämlich die NADH-Oxidase normal nachweisbar (HOLMES et al., 1970).

Der Mechanismus der NBT-Reduktion ist also noch nicht bekannt.

NBT ist seit 1953 (SHAFFER et al., 1953; dann BAEHNER et al., 1966) zur Prüfung der Digestionsfähigkeit von Leucocyten in Gebrauch. Dieser "NBT-Test" wurde vielfach variiert. Die Untersuchungen wurden entweder im Vollblut oder in der Suspension separierter Leucocyten vorgenommen und entweder mikroskopisch oder spektrophotometrisch ausgewertet. Durch in-vitro-Stimulation der Leucocyten wurde eine deutliche Steigerung der NBT-Reduktion erreicht. Im Vergleich zu nicht stimulierten Leucocyten (PARK et al., 1967; MATULA et al., 1970; RUBINSTEIN et al., 1973) reduzieren Leucocyten nach Ingestion von Latexpartikeln (WINDHORST et al., 1967; BAEHNER et al., 1968; JOHNSTON, 1969; RENNER, 1969; HUMBERT et al., 1970; GIFFORD et al., 1970), Zymosan (NATHAN et al., 1969), Candida (PREISIG et al., 1971), Pseudomonas aeruginosa (COCCHI et al., 1971) oder Escherichia coli (NYDEGGER et al., 1973) NBT signifikant stärker. Die Möglichkeit einer von der Ingestion unabhängigen in-vitro-Stimulation der Leucocyten besteht in der Einwirkung von Endotoxin

(PARK et al., 1970; NYDEGGER et al., 1973; PILGRIM et al., 1974).

Im Sinne einer Stimulation verhielten sich auch NG von Patienten mit akuten bakteriellen Infektionen : Gegenüber NG infektfreier Personen und Patienten mit viralen Infektionen fanden die Autoren hier eine signifikant höhere NBT-Positivität, sodaß der NBT-Test zur Differentialdiagnose der Ätiologie von Infektionskrankheiten verwandt wurde (PARK et al., 1968, 1970; MATULA et al., 1970; VAUCHER et al., 1970; FEIGIN et al., 1971; HUMBERT et al., 1971; FREEMAN et al., 1972; WOLLMANN et al., 1972; GLYN-JONES, 1973; WINCHESTER et al., 1973; HELLMUM et al., 1973; FIKRIG et al., 1973; STOSSEL, 1973; SEGAL et al., 1973; BITTNER et al., 1973; CAMPOS et al., 1974; STEIGBIGEL et al., 1974).

An NG Neugeborener wandten zuerst PARK et al., 1968, den NBT-Test an : Sie fanden eine Steigerung der NBT-Positivität der NG im Blut Neugeborener im Vergleich zu NG infektfreier Kontrollpersonen jenseits der Neugeborenen-Periode. Diesen Befund bestätigen Untersuchungen von COCCHI et al., 1971; HUMBERT et al., 1970; WEHINGER et al., 1972; KIM et al., 1973; GOEL et al., 1974 und KALPAKTSOGLU et al., 1974.

Stimulation der NG reifer Neugeborener und Frühgeborener durch Ingestion von Latexpartikeln (HUMBERT et al., 1970) und *Pseudomonas aeruginosa* (COCCHI et al., 1971) ließen eine weitere Steigerung der NBT-Positivität erkennen.

Die Dauer der Aktivitätserhöhung wird ungefähr übereinstimmend angegeben : PARK et al., 1968 : 7 - 20 Tage; WEHINGER et al., 1972, KIM et al., 1973 : bis Ende der zweiten Lebenswoche; GOEL et al., 1974 : innerhalb fünf Wochen.

PARK et al., 1970, deuten die von ihnen beschriebene

ne gesteigerte NBT-Positivität von nichtstimulierten NG Neugeborener als "Folge einer gesteigerten metabolischen Aktivität" (Nachweis erhöhter O_2 -Aufnahme, CO_2 -Produktion, Glucose-Verbrauch und Lactat-Produktion). Wurden die NG der Neugeborenen und der Kontrollgruppe aber stimuliert, so unterschieden sie sich nicht in diesen Parametern. Die NG Neugeborener befinden sich demnach bereits in einem Zustand der Stimulation.

Ganz im Gegensatz dazu stehen Untersuchungsergebnisse von BELLANTI et al., 1969, die eine verminderte NBT-Positivität von NG Neugeborener fanden.

Das abweichende Verhalten von NG Neugeborener von dem der NG älterer Individuen wurde von keinem der Autoren erklärt.

COCCHI et al., 1969 und 1971, fanden außerdem eine erhöhte NBT-Positivität bei gesunden Frühgeborenen, bei bakteriell infizierten Frühgeborenen jedoch ein Absinken der Werte unter diejenigen gesunder Erwachsener, ein Befund, den die Autoren als mögliche teilweise Erklärung für die Infekthäufung bei Frühgeborenen ansehen, dessen Ursache sie allerdings nicht angeben können. Von anderen Autoren wurde diese Frage nicht untersucht.

DRYSDALE bestimmte 1972 für NG gesunder Gravider eine erhöhte NBT-Positivität unabhängig von der Schwangerschaftsdauer. Zum selben Ergebnis kamen RAMSDALE et al., 1973; sie schlossen zudem Blutgruppenunverträglichkeit als Ursache aus; 5 bis 8 Tage post partum normalisierten sich die Reduktionswerte wieder. Die Autoren sehen die Steigerung als "wahrscheinlich nicht hormonell bedingt" an und deuten sie als Ausdruck einer immunologischen Aktivität des maternen Organismus gegen den Feten.

NORDEN et al. fanden 1972 nach Einnahme oraler Kontrazeptiva (Oestrogen-Progesteron-Kombinationspräparate) erhöhte Positivität, ARROWSMITH et al., 1973, bei nur mit Oestrogen oder nur mit Progesteron behandelten Patientinnen unveränderte Werte.

Diese Untersuchungen geben also Hinweise darauf, daß die hormonale Situation während der Schwangerschaft die Funktion der NG beeinflussen könnte.

Mit einer Ausnahme (BELLANTI et al., 1969) stimmen alle bisher zitierten Veröffentlichungen darin überein, daß NG von Neugeborenen eine höhere NBT-Positivität aufweisen als NG infektfreier älterer Individuen. Mikroskopische Auswertung ergab außerdem eine Steigerung des Anteils der an der Ingestion beteiligten NG.

Da die bisher verwandten Methoden eine Trennung der Leucocytenfunktionen NBT-Aufnahme und NBT-Reduktion nicht zulassen, waren keine Aussagen darüber möglich, ob die Differenz der Ergebnisse durch unterschiedliche NBT-Aufnahme oder unterschiedliche NBT-Reduktionskapazität der NG verursacht ist.

Daß bestimmte Krankheiten Änderungen im Verhalten der Zellmembran bewirken und diese eine gesteigerte NBT-Aufnahme ergeben könnten, wird von GRUSH et al., 1969; McCALL et al., 1971; PARK, 1971; STOSSEL, 1973; MIESCHER, 1973; NYDEGGER et al., 1973, erwogen. Zudem finden sich Positivitätssteigerungen bei Zuständen mit gesteigerter Phagocytoseaktivität (bakterielle Infekte, Gewebenekrosen) (VAUCHER et al., 1970; SHAFAR et al., 1974).

Bei der in der vorliegenden Arbeit verwandten, von ESCHENBACH et al. 1975 beschriebenen Methode

wird den NG nicht - wie bei den vorherigen Modifikationen des NBT-Tests - frei gelöstes NBT angeboten, sondern an abgetötete Staphylokokken gekoppeltes NBT. Dies ermöglicht eine getrennte Beurteilung der Ingestionsfähigkeit der NG (über die Gesamtzahl der ingestierten Bakterien) und ihres Reduktionsvermögens (über den Anteil reduzierter Bakterien an der Gesamtzahl der ingestierten Bakterien). Die Modifikation ermöglicht weiterhin, daß die Relation der Zahl der NBT-Staphylokokken (NBT-Staph) zur Zahl der phagocytierenden Zellen bestimmt und variiert werden kann. Damit wird die Ingestions- und NBT-Reduktions-Kapazität der phagocytierenden Zellen in Abhängigkeit von dem Angebot quantitativ beurteilbar. Diese Möglichkeit ist besonders dadurch gegeben, daß im Vergleich zu anderen Methoden die Konzentration des cytotoxisch wirkenden NBT auch bei hohem Angebot des Phagocytates pro phagocytierende Zelle, d.h. pro NG, gering ist (z.B. liegt die Konzentration des NBT bei 0,067 %, wenn $NG = 5 \times 10^6$ /ml Vollblut, $NBT-Staph = 3 \times 10^9$ /ml Suspension, Relation $NBT-Staph : NG = 100 : 1$, Ansatzmenge = 1,5 ml).

Aus methodischen Gründen wurde die Untersuchung auf NG beschränkt: In Eosinophilen Granulocyten sind die ingestierten, nicht reduzierten Bakterien nicht von den Granula zu unterscheiden. Weiterhin ist die Zahl der Eosinophilen Granulocyten wie auch diejenige der Monocyten zu gering, um verlässliche Ergebnisse zu gewährleisten.

Berechnet man Ingestionsindex und Reduktionsindex der NG Neugeborener als Funktion des Angebotes von NBT-Staph/NG, so sind diese signifikant höher als die Indices der Kontrollgruppe. Genauso verhält sich der Anteil der an der Ingestion betei-

ligten NG. Wählt man hingegen den Ingestionsindex als Bezugsgröße, so ergeben sich zwischen den Reduktionsindices der beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Daraus folgt, daß die gegenüber der Kontrollgruppe gesteigerte NBT-Reduktion von NG Neugeborener allein bedingt ist durch eine erhöhte Ingestionskapazität, nicht hingegen durch eine erhöhte Reduktionskapazität. Die Reduktionskapazität ist also vom Alter der untersuchten Person unabhängig.

Dasselbe Verhalten beschreiben ESCHENBACH et al., 1975, auch für Patienten mit bakteriellen Infektionen.

Bei den mit freiem, nicht Staphylokokken-gebundenen NBT untersuchten NG hämatologisch gesunder Personen wird also die Ingestions-, nicht die Reduktionskapazität bestimmt, und die erhöhte NBT-Positivität bei NG Neugeborener ist allein auf die gesteigerte Ingestion zurückzuführen, während die Reduktionskapazität der aus der Nabelschnur gewonnenen NG sich nicht unterscheidet von der Reduktionskapazität der NG gesunder Personen jenseits der Neugeborenen-Periode.

5. Zusammenfassung

Das Prinzip des NBT-Testes beruht darauf, daß gelbes Nitroblau-Tetrazolium (NBT) von phagocytierenden Leucocyten durch Ingestion und/oder Diffusion aufgenommen und zu blauem Formazan reduziert wird.

Bei gesunden Personen jenseits der Neugeborenen-Periode ist die von phagocytierenden Leucocyten des peripheren Blutes reduzierte NBT-Menge weitgehend konstant, gesteigert ist sie jedoch bei Patienten mit bakteriellen Infektionen und bei Neugeborenen.

Da eine Trennung der Funktionen NBT-Aufnahme und NBT-Reduktion nicht möglich ist, läßt die Negativität einer Zelle im NBT-Test keine Schlüsse zu, ob NBT-Aufnahme, NBT-Reduktion oder beide Vorgänge unterblieben sind. Ebenso erlaubt eine Steigerung der NBT-Positivität keine Aussage über deren Ursache.

Bei vorliegender Untersuchung kam eine von ESCHENBACH et al., 1975, beschriebene Modifikation des NBT-Testes zur Anwendung, die eine getrennte Beurteilung von NBT-Aufnahme und NBT-Reduktion erlaubt: NBT wird an hitzegetötete Bakterien gekoppelt und Leucocyten zur Ingestion angeboten. Erfolgt die Reduktion zu Formazan, erscheinen die ingestierten Bakterien blau gefärbt, bleibt die Reduktion des NBT aus, so sind die NBT-tragenden Bakterien lichtmikroskopisch ebenfalls sicher zu identifizieren, sie sind grau-braun. Dadurch wird eine Korrelation von NBT-Angebot und NBT-Reduktion einerseits und NBT-Ingestion und

NBT-Reduktion andererseits ermöglicht.

Mit Hilfe dieser Methode wird in der Arbeit gezeigt, daß die erhöhten Werte im NBT-Test an Neutrophilen Granulocyten Neugeborener allein auf der erhöhten Ingestionskapazität und nicht auf erhöhter Reduktionskapazität der Neutrophilen Granulocyten beruhen, daß die Reduktionskapazität mithin vom Alter der untersuchten Person unabhängig ist.

6. Literaturverzeichnis

1. ARROWSMITH, D., MORIN, R.J.:
Oral contraceptives and the NBT-Test.
Lancet 1973/I, 148-149
2. AZIMI, P.H., BODENBENDER, J.G., HINTZ, R.L.,
KONTRAS, S.B.:
Chronic Granulomatous Disease in Three Female
Siblings.
JAMA 206, 2865-2870 (1968)
3. BAEHNER, R.L., JOHNSTON, R.B.Jr., NATHAN, D.J.:
Comparative Study of the Metabolic and Bacteri-
cidal Characteristics of Severaly Glucose-6-
Phosphate Dehydrogenase-Deficient Polymorpho-
nuclear Leucocytes and Leucocytes from Children
with Chronic Granulomates Disease.
RES. 12, 150-169 (1972)
4. BAEHNER, R.L., NATHAN, D.G.:
Deficient Glucose Oxidation in the Intakt Leuco-
cytes of Chronic Granulomatous Disease.
Blood 28, 1010-1011, 1966
5. BAEHNER, R.L., NATHAN, D.G.:
Leucocyte oxidase: Defective activity in chronic
granulomatous disease
Sciece 155, 835-836, 1967
6. BAEHNER, R.L., NATHAN, D.G.:
Quantitative nitroblue tetrazolium test in
chronic granulomatous disease
New Engl. J. Med. 278, Nr. 18, 971-976, 1968

7. BELLANTI, J.A., CANTZ, B.E., MAYBEE, D.A.,
SCHLEGEL, R.J.:
Defective Phagocytosis by Newborne Leucocytes:
A Defect similar to that in Chronic Granuloma-
tous Disease?
Ped. Res. 3, 376, 1969
8. BELLANTI, J.A., CANTZ, B.E., YANG, M.C.,
THADDEN, H.v., SCHLEGEL, R.J.:
Leucocyte Maturation: G-6-PD Activity and NBT
Dye Reduction.
Ped. Res. 4, 462, 1970
9. BITTNER, S.J., KIEFF, E., WINDHORST, D., MEIER, P.:
The use of the unstimulated nitroblue tetrazolium
test as a routine screening test for bacterial in-
fection in an adult population.
Amer. J. Clin. Pathol. 60, 843-853, 1973
10. McCALL, C.E., COOPER, M.R., DeCHATELET, L.R.:
Nitroblue Tetrazolium test
J. Pediat. 79, 170-171, 1971
11. CAMPOS, M.E., RABINOVICH, S., SMITH, I.M.:
The nitroblue tetrazolium test
Arch. Internal. Med. 133, 432-436, 1974
12. CHANDRA, R.K., COPE, W.A., SOOTHILL, J.F.:
Chronic Granulomatous Disease.
Evidence for an Autosomal Mode of Inheritance.
Lancet 1969/II, 71-74
13. COCCHI, P., MORI, S., BECATTINI, A.:
NBT-test in premature infants.
Lancet 1969/II, 1426-1427

14. COCCHI, P., MORI, S., BECATTINI, A.:
Il test al nitroblu tetrazolium nel prematuro
Minerva Pediatrica 23, 185-187, 1971
15. COCCHI, P., MORI, S., BECATTINI, A.:
Nitroblue-Tetrazolium Reduction by Neutrophils of
Newborn Infants in In-Vitro Phagocytosis Test.
Acta Pediat. Scand. 60, 475-478, 1971
16. COOPER, M., DeCHATELET, L., LAVIA. M., McCALL, C.,
SPURR, C., BAEHNER, R.:
Complete deficiency of leucocyte glucose-6-phos-
phate dehydrogenase with defective bactericidal
activity.
J. Clin. Invest. 49, 1970
17. DRYSDALE, H.C.:
NBT-test in appendicitis.
Lancet 1972/II, 594
18. ESCHENBACH, C., SEEBACH, G., MÜLLER-LISSNER, St.:
NBT-Reduktionskapazität von Neutrophilen Granulo-
cyten. Klin. Wschr. 53, 1049 - 1056, 1973
19. FEIGIN, R.D.:
NBT Test in the Diagnosis of Febrile Patients.
N. Engl. J. Med. 285, 347-348, 1971
20. FEIGIN, R.D., SHACKELFORD, P.G., CHOI, S.C.,
FLAKE, K.K., FRANKLIN, F.A.Jr., EISENBERG, C.S.:
Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the
differential diagnosis of febrile disorders.
J. Pediatrics 78, 230-237, 1971
21. FIKRIG, S.M., BERKOWICH, S., EMMET, S.M.,
GORDON, C.:
Nitroblue Tetrazolium dye test and differential
diagnosis of meningitis
J. Pediat. 82, 855- 857, 1973

22. FREEMAN, R., KING, B.:
Infective Complications of Indwelling Intravenous
Catheters and the Monitorin of Infections by the
Nitroblue-Tetrazolium Test.
Lancet 1972/I, 992-993
23. FREEMAN, R., KING, B.:
N.B.T.-Test in Acute Appendicitis.
Lancet 1972/II, 1198
24. GIFFORD, R.H., MALAWISTA, S.E.:
A simple rapid micromethod for detecting chronic
granulomatous disease of childhood.
J. Lab. Clin. Med. 75, 511-519, 1970
25. GLYN-JONES, R.:
NBT-test
Lancet 1973/II, 161-162
26. GOEL, K.M., VOWELS, M.R.:
Leucocyte function in normal and preterm infants
Acta Pediat. Scand. 63, 122- 124, 1974
27. GRUSH, O.C., MAUER, A.M.:
Neutrophil Function and N.B.T. Dye Reduction.
Lancet 1969/II, 383
28. HELLMUM, K.B., SOLBERG, C.O.:
Positiv NBT-Test in acute viral hepatitis
Lancet 1973/I, 1181
29. HOLMES, B., PARK, B., MALAWISTA, S., QUIE, P.,
NELSON, D., GOOD, R.:
Chronic granulomatous disease in females: A defi-
ciency of leucocyte glutathione peroxidase
New Engl. J. Med. 283, 217 1970

30. HUMBERT, J.R., KURTZ, M.L., HATHAWAY, W.E.:
Increased Reduction of Nitroblue Tetrazolium by
Neutrophils of Newborn Infants.
Pediatrics 45, 125-128, 1970

31. HUMBERT, J.R., MARKS, M.I., HATHAWAY, W.E.,
THOREN, C.H.:
The Histochemical Nitroblue Tetrazolium Reduction
Test in the Differential Diagnosis of Acute Infections.
Pediatrics 48, 259-267, 1971

32. JOHNSTON, R.B.Jr.:
Screening Test for the Diagnosis of Chronic Gra-
nulomatous Disease.
Pediatrics 43, 122-123, 1969

33. KALPAKTSOGLU, P.K., PADIATELLIS, C.P., SOFATZIS, J.A.,
METAXAS, C.B.:
Evaluation of Nitroblue Tetrazolium test in low
birth-weight infants.
J. Pediat. 84, 441-443, 1974

34. KARNOVSKY, M.:
The metabolism of leucocytes.
Seminars Hemat. 5, 156, 1968

35. KIM, S.K., MONZ, E., WEHINGER, H.:
NBT-Test. Ein neues Hilfsmittel für die Diagnostik
bakterieller Infektionen.
Klin. Pädiat. 185, 141-146, 1973

36. MATULA, G., PATERSON, P.Y.:
Spontaneous in vitro Nitroblue Tetrazolium reduc-
tion: a discriminatory test for bacterial infection.
J. Clin. Invest. 49, 62 a, 1970

37. MIESCHER, P.A.:
Problematik und klinische Bedeutung der Leuco-
cyten-Funktionstestung.
Klin. Wschr. 50, 359-360, 1973

38. NATHAN, D.G., BAEHNER, R.L., WEAVER, D.K.:
Failure of Nitroblue Tetrazolium Reduction in the
Phagocytic Vacuoles of Leucocytes in Chronic
Granulomatous Disease.
J. Clin. Invest. 48, 1895-1904, 1969
39. NORDEN, C.W., REESE, R.:
Oral Contraceptives and NBT-Test.
New Engl. J. Med. 287, 254, 1972
40. NYDEGGER, U.E., MIESCHER, A., ANNER, R.M., CREIGHTON, D.W., LAMBERT, P.H., MIESCHER, P.A.:
Serum and Cellular Factor Involvement in Nitroblue Tetrazolium (NBT) Reduction by Human Neutrophils.
Klin. Wschr. 51, 377-382, 1973
41. OCHS, H.D., IGO, R.P.:
The NBT slide test: A simple screening method for detecting chronic granulomatous disease and female carriers.
J. Pediat. 83, 77-82, 1973
42. PARK, B.H.:
The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid.
J. Pediat. 78, 376-378, 1971
43. PARK, B.H., FIKRIG, S.M., SMITHWICK, E.M.:
Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils.
Lancet 1967/I, 532-534
44. PARK, B.H., GOOD, R.A.:
N.B.T. Test Stimulated.
Lancet 1970/II, 616
45. PARK, B.H., HOLMES, B., GOOD, R.A.:
Metabolic activities in leucocytes of newborn infants.
J. Pediat. 76, 237-241, 1970

46. PARK, B.H., HOLMES, B.M., RODEY, G.E., GOOD, R.A.:
Nitroblue-Tetrazolium Test in Children with Fatal
Granulomatous Disease and Newborn Infants.
Lancet 1968/I, 157
47. PILGRIM, U., GINDRAT, J.-J., RUCKLI, B., HITZIG, W.H.:
Nitroblue-Tetrazolium (NBT)-Reduktion in Granulo-
zyten von Kindern mit akuter Leukämie.
Schweiz. med. Wschr. 104, 147, 1974
48. PREISIG, E., HITZIG, W.H.:
Nitroblue-Tetrazolium Test for the Detection of
Chronic Granulomatous Disease - Technical Modifi-
cations.
Europ. J. Clin. Invest. 1, 409-412, 1971
49. RAMSDALE, E.H., MOWBRAY, J.F.:
Positive NBT-Test in pregnancy.
Lancet 1973/I, 1245-1247, 1973
50. RENNER, R.:
Untersuchungen über die NADH-Oxydase-Aktivität
der neutrophilen Leukocyten.
Helvet. paediat. Acta 24, 633-643, 1969
51. RUBINSTEIN, A., PELET, B.:
False negative NBT-tests due to transient mal-
function of neutrophils.
Lancet 1973/I, 382
52. SEGAL, A.W., TRUSTEY, S.F., LEVY, A.J.:
Re-Evaluation of Nitroblue-Tetrazolium Test.
Lancet 1973/II, 879-883
53. SHAFAR, J., BEHR, G., RUSIUS, J.:
The nitroblue-tetrazolium test following acute
myocardial infarction.
J. Clin. Path. 27, 399-401, 1974

54. SHAFFER, J.M., KUCERA, C.J., SPINK, W.W.:
The Protection of Intracellular Brucella against
Therapeutic Agents and the Bactericidal Action
of Serum.
J. Exp. Med. 97, 77-89, 1953
55. STEIGBIGEL, R.T., JOHNSON, P.K., REMINGTON, J.S.:
The nitroblue tetrazolium reduction test versus
conventional hematology in the diagnosis of bac-
terial infection.
New Engl. J. Med. 290, 235-238, 1974
56. STOSSEL, T.:
Evaluation of opsonic and leucocyte function with
a spectrometric test in patients with infection
and with phagocytic disorders.
Blood 42, 121-130, 1973
57. THOMPSON, E.N., CHANDRA, R.K., COPE, W.A.,
SOOTHILL, J.F.:
Leucocyte Abnormality in Both Parents of a Patient
with Chronic Granulomatous Disease.
Lancet 1969/I, 799-801
58. VAUCHER, A., WYSS, M., THEVOZ, F., KNÖPFEL, M.,
MIESCHER, P.A.:
La réduction du nitrobleu de tétrazolium par les
granulocytes dans divers états cliniques.
Schweiz. med. Wschr. 100, 2248-2251, 1970
59. WEHINGER, H., KIM, S.K., PRINGSHEIM, W.:
Modified N.B.T. Test in Premature Infants.
Lancet 1972/I, 1294
60. WINCHESTER, J.F., GORDON, A.M., ROWAN, A.M.,
LINDSAY, R.M., BLACK, D.A.:
Interpretation of the Nitroblue-Tetrazolium Test
in regularly dialysed patients.
Lancet 1973/II, 192-293

61. WINDHORST, D.B., HOLMES, B., GOOD, R.:

A newly defined x-linked trait in man with demonstration of the lyon effect in carrier females.

Lancet 1967/I, 737-739

62. WINDHORST, D., PAGE, A., HOLMES, B., QUIE, P., GOOD, R.:

The pattern of genetic transmission of the leucocyte defect in fatal granulomatous disease of childhood.

J. Clin. Invest. 47, 1026-1034, 1968

63. WOLLMAN, M.R., DAVID, D.S., BRENNAN, B.L., LEWY, J.E., STENZEL, K.H., RUBIN, A.L., MILLER, D.R.:

The Nitroblue-Tetrazolium Test

Usefulness in Detecting Bacterial Infections in Uraemic and Immunosuppressed Renal Transplant Patients.

Lancet 1972/I, 289-292

7. Lebenslauf

Am 31. August 1950 wurde ich in Frankfurt am Main als jüngstes von vier Kindern des Oberstudiendirektors Dr. Josef Müller und seiner Frau Maria, geb. Röper, geboren.

In Frankfurt-Eschersheim besuchte ich die Volksschule, danach das Lessing-Gymnasium in Frankfurt bis zum Abitur am 2. Juni 1969.

Im WS 1969/70 und SS 1970 studierte ich an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt Mathematik und Physik, vom WS 1970/71 bis SS 1973 an der Justus Liebig-Universität in Gießen Medizin, vom WS 1973 an in Marburg Medizin.

Seit April 1974 bin ich mit der Studienreferendarin und Doktorandin der Romanistik Adelheid Müller-Lissner verheiratet.

Vorphysikum (23. Juli 1971) und Physikum (24. Juli 1972) legte ich in Gießen ab, das Staatsexamen am 19. Dezember 1975 an der Philipps-Universität in Marburg.

8. Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

8.1. in Frankfurt

Kulze, Martienssen, Schwarz

8.2. in Gießen

Ahlbrecht, Anders, Barth, Blasius, Brück, Degkwitz, Duncker, Ebner, Ewald, Fuhrmann, Grebe, Habermann, Hager, Hanle, Hoppe, Knothe, Kracht, L'Allemand, Lange, Lasch, Leinweber, Löffler, Matthes, Müller-Eckhardt, Nolte, Oksche, Pia, Rausch, Richter, Ringleb, Róka, Rothauge, Ruténfranz, Scharmann, Schwantes, Staudinger, Thauer, Voßschulte, Wellensiek, Wellhöner, Wolff.

8.3. in Marburg

Arndt, Buchholz, Daume, Dittrich, Dombrowski, Eißner, Eschenbach, Exner, Friederich, Ganz, Goßmann, Grundner, Hamelmann, Hardewig, Havemann, Heene, Hering, Hildebrandt, Hilgermann, Hort, Huch, Jakob, Kaffarnik, Kalbfleisch, Karl, Klaus, Klein, Kleinsasser, Knauff, Koransky, Lauer, Linneweh, Maroske, Martini, Niemeyer, Oepen, Pots, Rodeck, Rupec, Schmid, Siegert, Straub, Stutte, Uhlarik, Welge-Lüßen, Willenbockel.

